

**VALORACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS AMBIENTES DE  
LAS ÁREAS DE TRABAJO DEL LABORATORIO DE AGUAS DE PROACTIVA  
AGUAS DE MONTERIA S.A E.S.P**

**KAREN JOHANA ABAD AGÀMEZ**

**DIRECTOR PASANTIA:  
EDUARDO THORRENS ROMERO**

**UNIVERSIDAD DE CORDOBA  
FACUTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
PROGRAMA DE BACTERIOLOGIA  
AÑO 2016**

RESUMEN .....	4
SUMMARY .....	4
INTRODUCCIÒN.....	6
OBJETIVOS.....	9
Objetivo general .....	9
Objetivos específicos.....	9
MARCO DE REFERENCIA .....	10
TIPOS DE MUESTREO DE MICROORGANISMOS EN AIRE.....	11
A) SEDIMENTACIÒN .....	11
B) RECOGIDA EN MEDIO LÍQUIDO .....	12
C) FILTRACIÒN .....	12
D) IMPACTACIÒN .....	13
REFERENTE HISTORICO DE MICROBIOLOGIA DEL AIRE .....	13
MESOFILOS AEROBIOS .....	16
HONGOS .....	16
AGAR PLATE COUNT.....	16
AGAR OGY .....	16
MARCO LEGAL .....	17
DECRETO NÚMERO 1575 DE 2007:.....	17
RESOLUCIÒN 2115:.....	17
RESOLUCIÒN 4353:.....	17
ISO 17025:.....	17
METODOLOGÍA.....	18
TIPO DE ESTUDIO:.....	18
POBLACIÒN .....	18
MUESTRA .....	18
LIMPIEZA Y DESINFECCIÒN.....	18
EXPOSICIÒN CON LUZ U.V .....	19
METODO DE SEDIMENTACIÒN EN PLACA .....	19
EVALUACIÒN DE DESINFECTANTE .....	19
RESULTADOS .....	21
TÉCNICA DE SEDIMENTACIÒN EN PLACA PARA LA DETECCIÓN DE MESÓFILOS AEROBIOS Y HONGOS .....	21
EVALUACIÒN DE DESINFECTANTE (HTH).....	25
DISCUSIÒN.....	27

CONCLUSIÒN .....	29
RECOMENDACIONES .....	30
ANEXOS .....	31
BIBLIOGRAFÍA .....	34

## LISTA DE TABLAS Y GRÁFICAS

Tabla 1 .....	19
Tabla 2 .....	21
Tabla 3 .....	23
Tabla 4 .....	25
Gráfica 1 .....	22
Gráfica 2 .....	23
Gráfica 3 .....	24
Gráfica 4 .....	25

## **RESUMEN**

El ambiente de las áreas de trabajo es un componente importante a la hora de evaluar la eficacia de los procesos del laboratorio de aguas, debido a que una calidad óptima de ellos garantiza que los resultados obtenidos son certeros. Es por esta razón que el laboratorio de aguas de PROACTIVA AGUAS DE MONTERIA S.A acreditado bajo la norma ISO 17025 en garantía del cumplimiento de los requisitos de esta, debe monitorear escrupulosamente todos los procesos relacionados con prueba/ensayo, lo que incluye, verificación microbiológica de ambientes, con el fin de demostrar la viabilidad de los ambientes de las áreas de trabajo.

Para el proceso de valoración se utilizó como técnica el método de sedimentación en placa definido por el STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER en donde se utilizan cajas de Petri con agar plate count, dejándose expuestas al ambiente por un tiempo de 15 min, previa exposición de la lámpara de luz U.V por un tiempo de 15 min y luego se incuban a una temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ , además también se expusieron al ambiente cajas de Petri con agar BHI para la búsqueda de hongos durante el mismo tiempo y se incubarán a temperatura ambiente por 7 días. Por otro lado también se evaluará el desinfectante usado para la limpieza y desinfección de las áreas de trabajo.

Luego de obtener todos los resultados, se determinó con base en lo establecido en el STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER si los ambientes cumplen o no con lo establecido.

## **SUMMARY**

The atmosphere of the work areas is an important factor in assessing the effectiveness of the processes of water laboratory component, because optimal quality of them ensures that the results are accurate. It is for this reason that the water laboratory PROACTIVA WATERS MONTERIA SA accredited under ISO 17025 in ensuring compliance with the requirements of this, you must carefully monitor all processes related test / assay, including, microbiological verification environments, in order to demonstrate the feasibility of environments workspaces.

For the valuation process the sedimentation method plaque defined by STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER where Petri dishes are used with agar plate count, leaving exposed to the environment for a period of 15 min was used as a technique, prior exposure of the UV lamp for 15 min time and then incubated at a temperature of  $35^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ , in addition to environment Petri dishes with agar were also exposed for finding BHI fungi during the same time and incubated at room temperature for 7 days. On the other hand disinfectant used for cleaning and disinfection of work areas it will also be evaluated.

After obtaining all the results, it was determined based on the provisions STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER whether or not environments meet the provisions.

## INTRODUCCIÒN

La atmósfera no tiene una microbiota autóctona pero es un medio para la dispersión de muchos tipos de microorganismos (esporas, bacterias, virus y hongos), procedentes de otros ambientes. Algunos han creado adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y permanencia.

El aire contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos, especialmente bacterias y hongos. La presencia de uno u otro tipo depende del origen, de la dirección e intensidad de las corrientes de aire y de la supervivencia del microorganismo. Algunos microorganismos se encuentran en forma de células vegetativas, pero lo más frecuente son las formas esporuladas, ya que las esporas son metabólicamente menos activas y sobreviven mejor en la atmósfera porque soportan la desecación. Las producen hongos, algas, líquenes, algunos protozoos y algunas bacterias. (De la Rosa, Mosso, & Ullán, El aire: hábitat y medio de transmisión, 2002)

Las esporas son las formas de vida con mayor supervivencia y tienen varias propiedades que contribuyen a su capacidad para sobrevivir en la atmósfera, principalmente su metabolismo bajo, por lo que no requieren nutrientes externos ni agua para mantenerse durante largos períodos de tiempo. Además poseen otras adaptaciones que aumentan su capacidad de sobrevivir en este ambiente. Algunas esporas tienen paredes gruesas que las protegen de la desecación y otras son pigmentadas, lo que las ayuda contra las radiaciones ultravioleta. Su escasa densidad les permite permanecer suspendidas en el aire sin sedimentar. Algunas son muy ligeras e incluso contienen vacuolas de gas y otras tienen formas aerodinámicas que les permite viajar por la atmósfera. Los virus son en general, más resistentes que las bacterias en las condiciones ambientales. No se inactivan con el oxígeno, siendo los virus desnudos más estables a humedades relativas altas y los envueltos a las bajas. La supervivencia de las bacterias es variable, debido a su diversidad estructural y metabólica. En general, las bacterias Gram positivas son más resistentes que las Gram negativas ya que su pared celular es más gruesa.

Los principales factores que intervienen en la supervivencia de un microorganismo son: Humedad relativa, temperatura, oxígeno, materia orgánica y radiaciones.

— Humedad relativa: Es el factor más importante. Cuando la humedad relativa del aire decrece, disminuye el agua disponible para los microorganismos, lo que causa deshidratación y por tanto la inactivación de muchos de ellos. El límite menor para el crecimiento de hongos es del 65 %. Las bacterias requieren una mayor humedad. Las Gram negativas resisten peor la desecación que las positivas; esto se refleja en que existe poca evidencia de transmisión por el aire de bacterias Gram negativas.

— Temperatura: Está muy relacionada con la humedad relativa, por lo que es difícil separar los efectos que producen ambas. La congelación no destruye los microorganismos pero no pueden multiplicarse. Diversos estudios muestran que el incremento de la temperatura disminuye la viabilidad de los microorganismos.

— Oxígeno: Se ha observado una correlación negativa entre la concentración de oxígeno y la viabilidad, que aumenta con la deshidratación y el tiempo de exposición. La causa de la inactivación podría ser los radicales libres de oxígeno.

— Materia orgánica: La atmósfera contiene muy poca concentración de materia orgánica, y en la mayoría de los casos, es insuficiente para permitir el crecimiento heterotrófico. El agua disponible es escasa por lo que, incluso el crecimiento de microorganismos autótrofos está limitado.

— Radiaciones: La inactivación que producen en los microorganismos depende de la longitud de onda e intensidad de la radiación. Las de longitud de onda corta (rayos X, rayos  $\gamma$ ) contienen más energía, son ionizantes y alteran o destruyen el DNA de los microorganismos. Otros factores, como la humedad relativa, concentración de oxígeno y la presencia de otros gases, influyen en el efecto que producen las radiaciones sobre los microorganismos. La forma de interacción es poco conocida, pero la desecación y congelación pueden proteger a los organismos de las radiaciones. (De la Rosa, Mosso, & Ullán, 2002)

Se ha establecido un límite de calidad para los ambientes en donde se realizan procesos microbiológicos para garantizar la eficacia de los mismos, de esta manera según lo establecido en el STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER un ambiente óptimo para el procesamiento de muestras de agua no debe tener más de 15 UFC. Por esta razón se hace necesaria la realización de un control de calidad de ambientes, para determinar la cantidad de microorganismos presentes en el mismo.

El control de calidad de los ambientes es el proceso mediante el cual se le realiza un seguimiento microbiológico a las áreas de trabajo, con el fin de garantizar la

viabilidad ambiental de las mismas y de esta manera la calidad en nuestros procesos. Este proceso es realizado utilizando la técnica de sedimentación en placa, por medio de la cual luego de haber realizado la limpieza y desinfección de nuestros mesones y previa exposición a la luz UV se exponen placas de agar plate count y agar BHI durante 15 min y luego se incuban de 18-24 horas a 35 +/- y durante 7 días a temperatura ambiente, respectivamente. Con este procedimiento se busca conocer la cantidad de bacterias presentes en nuestros ambientes y de así mismo determinar si nuestros procedimientos de limpieza y desinfección están siendo eficaces.



## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Valorar la calidad microbiológica de los ambientes de las áreas de trabajo del laboratorio de aguas de PROACTIVA AGUAS DE MONTERÍA S.A E.S.P. por medio de la técnica de sedimentación en placa.

### **Objetivos específicos**

- Verificar los procesos de limpieza y desinfección en las áreas de análisis microbiológico de agua.
- Realizar un monitoreo ambiental mediante la técnica de sedimentación en placa.

## MARCO DE REFERENCIA

En el mundo actual donde el interés de los laboratorios de las diferentes áreas de la microbiología es mantener controladas todas las variables que intervienen en sus procesos, tiene particular importancia el monitoreo microbiológico ambiental (MMA) como una herramienta útil para el control de los laboratorios y el monitoreo de las operaciones que se realizan durante un ensayo. Adicionalmente, por requerimientos de los sistemas de calidad y para lograr el cumplimiento de los requisitos derivados de las buenas prácticas de laboratorio; el monitoreo ambiental microbiológico está vinculado al aseguramiento de la calidad mediante el cual se obtienen evidencias documentadas para demostrar que un proceso conduce a resultados de calidad dentro de las especificaciones predeterminadas.

Existe una estrecha relación entre la calidad y el monitoreo ambiental debido a que la calidad conlleva al control, a la mejora de los resultados de un ensayo, de un producto o de un proceso y el monitoreo ambiental controla el ambiente de las áreas de trabajo para asegurar la calidad. En tal sentido, el diseño de un monitoreo ambiental microbiológico se lleva a cabo principalmente para conocer bajo qué condiciones microbiológicas se realizan determinadas operaciones que necesitan ser controladas, así como obtener información sobre las condiciones microbiológicas de las áreas y tomar acciones que permitan mantener dichas áreas bajo un estricto control sobre la calidad ambiental. De esta manera, facilita realizar actividades de procesamiento aséptico con las máximas garantías de seguridad.

El monitoreo microbiológico es un procedimiento que nos permite determinar el contenido microbiano de áreas, superficies, personal, equipo y otros. Mantener un control microbiológico ambiental es indispensable para asegurar la calidad de los productos elaborados y es un índice del estado higiénico del ambiente que rodea a las instalaciones. Se aplica para locales cerrados y limpios donde el número y variedad de microorganismos desarrollados deben ser bajos y pocos. Es importante tener en cuenta, que las estrategias de monitoreo se establezcan de acuerdo al área o superficie a muestrear.

El monitoreo ambiental en un laboratorio de microbiología debe evaluar tanto la calidad microbiológica del aire como de la superficie. Es por esta razón, que los niveles de microorganismos en aire y superficies se establecen en base al riesgo de contaminación del producto o proceso. Para esto es necesario determinar límites de acción, los cuales son definidos como los niveles que al ser excedidos, indican que el proceso se ha desviado de sus condiciones normales de operación. El rebasarlo implica tomar una acción correctiva, para que el proceso regrese a sus condiciones normales de operación. Existen suficientes indicios de que en áreas de oficinas, laboratorios, almacenaje y servicios generales coexisten sustancias capaces de alterar sus propiedades físicoquímicas y proveer las condiciones necesarias para el desarrollo y crecimiento de microorganismos que alteran las propiedades biológicas del aire, lo cual puede originar efectos nocivos

sobre la salud de las personas y sobre los materiales, dependiendo de la concentración y permanencia de estas sustancias en el ambiente. (Pérez & Sanchez, 2010)

Es cada vez más frecuente que dentro de las normativas de control de calidad se incluya un control microbiológico ambiental y de superficies y se hace prácticamente imprescindible en actividades relacionadas con productos destinados a sanidad o alimentación. Para llevar a cabo este análisis debemos establecer previamente:

- El método de muestreo que se va a utilizar, los microorganismos que se desean aislar y cuantificar, los lugares de muestreo, la posición del muestreador, número de muestras en cada punto, frecuencia de los muestreos.

Todos estos puntos dependen de las características específicas del ambiente que se pretende evaluar. Una vez determinados, conseguiremos análisis que podremos comparar y por tanto, obtener datos estadísticos. Cualquier comparación de resultados ha de tener en cuenta los procedimientos de muestreo utilizados ya que, existen diferencias importantes en la eficacia de captación de los distintos métodos. Al realizar la valoración de los resultados obtenidos a partir de la medición de microorganismos en ambiente o en superficie, nos encontramos la mayoría de las veces con el problema de la no existencia de criterios legales de valoración. Por ello, sólo nosotros mismos podremos valorar nuestras estadísticas y fijar nuestros parámetros.([www.sharlab.com](http://www.sharlab.com))

En el cumplimiento de las normas ISO se exige la recopilación del mayor número de datos posibles, que relacionen un producto con todo su proceso de fabricación y distribución. Un parámetro importante sería el control ambiental y de superficie. El acopio de datos en este sentido y la calidad del producto final, nos ayudará a crear nuestros propios criterios de valoración.

## TIPOS DE MUESTREO DE MICROORGANISMOS EN AIRE

A continuación se exponen los distintos métodos existentes para el muestreo de los microorganismos en aire y superficie:

### A) SEDIMENTACIÓN

Es el método más rudimentario de medición de microorganismos en el ambiente. Consiste en la exposición de placas de Petri al ambiente durante un cierto tiempo. Este método tiene la ventaja de que se puede realizar en todas las condiciones habituales de trabajo y en tiempo real, es el más económico y requiere muy poco tiempo de dedicación. **El resultado ha de expresarse como: u.f.c (unidades formadoras de colonias) /cm<sup>2</sup>/hora** (no puede referirse a un volumen de aire, por lo que los resultados no pueden ser cuantitativos/volumen de aire, pero si comparativos). Los tiempos de exposición no deben ser extremadamente largos para evitar que se reseque la superficie de la placa. Se utilizan placas de Petri estándares de 90 mm de diámetro y los medios más utilizados son:

- Agar de Triptona y Soja (T.S.A) para el recuento de aerobios.
- Agar Rosa de Bengala o Agar de Sabouraud cloranfenicol para el recuento de hongos.

El Agar Rosa de Bengala es un medio selectivo para la detección de hongos que, además de los requerimientos nutritivos para el desarrollo de los mismos, incorpora el indicador de Rosa de Bengala que, además de teñir las levaduras de color rosado, facilitando su contaje, impide el crecimiento masivo de mohos tales como *Rhizopus* y *Neurospora* permitiendo así detectar otros de crecimiento más lento. Recomendamos por tanto este medio para ambientes frecuentemente contaminados con este tipo de mohos. Se puede recurrir al uso de otros medios selectivos cuando nos interese controlar grupos concretos de microorganismos, por ejemplo el Agar Mac-ConKey o el Agar Rojo Bilis Violeta para enterobacterias o coliformes, el Agar Baird Parker para estafilococos, etc. ([www.sharlab.com](http://www.sharlab.com))

## B) RECOGIDA EN MEDIO LÍQUIDO

Consiste en hacer pasar un volumen determinado de aire en forma de burbujas a través de un caldo de cultivo o solución isotónica, en los cuales, teóricamente, quedan retenidos la mayor parte de los microorganismos. El recuento de microorganismos se realiza a partir de la siembra de alícuotas de esta muestra, pudiendo utilizar a continuación las distintas técnicas de análisis cuantitativo (NMP, inclusión en agar, filtración).

Este método es más laborioso que el anterior y necesita más utillaje (bomba de vacío o trompa de agua, material de vidrio). Se introducen por tanto en el ambiente más variables (el propio utillaje y el analista, que debe estar presente mientras se efectúa el muestreo).

En este caso no existe peligro de desecación del medio de cultivo y hay exactitud en el recuento que se puede expresar en u.f.c/m<sup>3</sup> de aire. Una posible proliferación bacteriana en el líquido puede conducir a errores en la cuantificación. Los medios de cultivo que se utilizan son los mismos que en el caso de la sedimentación. ([www.sharlab.com](http://www.sharlab.com))

## C) FILTRACIÓN

Se hace pasar un volumen determinado de aire a través de un filtro en el cual quedan retenidas las partículas portadoras de microorganismos.

Se pueden utilizar distintos tipos de filtros, siendo los más comunes los de membrana celulósica, o los de gelatina, los cuales se llevan directamente sobre un medio de cultivo sólido o bien se lavan, realizando posteriormente siembras en un medio sólido a partir del líquido de lavado.

Tiene las mismas ventajas y desventajas que el método anterior, a excepción de que en este caso sí que puede producirse la muerte de microorganismos por

dsecación con volúmenes de muestreo superiores a 250 l. Los medios de cultivo utilizados son los mismos que para el método de sedimentación. (www.sharlab.com)

#### D) IMPACTACIÓN

Un volumen determinado de aire se impacta sobre un medio de cultivo sólido. Existen varios equipos basados en este método:

1. Recolector de Andersen 6 niveles
2. Recolector de Andersen 1 nivel
3. Recolector de hendidura CASELLA
4. Recolector RCS (Reuter Centrifugal System)
5. Muestreador SAS (Surface Air System)

Este método es el más costoso en cuanto a material y a mantenimiento. Requiere formación del analista y su presencia durante el muestreo, por lo que, en el ambiente, se incluyen variables distintas a las habituales en tiempo real. Disminuye el tiempo de recogida de la muestra. En muestreos prolongados y en condiciones de sequedad y altas temperaturas puede desecarse el medio de cultivo. (www.sharlab.com)

#### REFERENTE HISTORICO DE MICROBIOLOGIA DEL AIRE

La existencia de una multitud de corpúsculos en el aire fue observada desde la antigüedad. Lucretius (55 a.C.) observó las partículas de polvo brillando en un rayo de sol en una habitación oscura y concluyó que su movimiento se debía al bombardeo de innumerables e invisibles átomos en el aire, aunque fue necesario esperar al descubrimiento del microscopio para ver que en el aire había microorganismos vivos.

Las esporas de los hongos fueron vistas por un botánico napolitano, Valerius Cordus, en el siglo XVI, pero fue Micheli (1679-1737) quien primero las dibujó observando las esporas de los mohos que se transmitían por el aire. Leeuwenhoek (1722) observa y describe por primera vez las bacterias en distintos ambientes y supone que *«estos animálculos pueden ser transportados por el viento mediante el polvo que flota en el aire»*.

Un siglo después, Ehrenberg, en sus numerosas memorias publicadas de 1822 a 1858, demostró que tanto las partículas atmosféricas del interior de las casas y hospitales como las del aire exterior de elevadas montañas estaban compuestas de esporas criptogámicas. En esta misma época en Francia, Gaultier de Claubry (1855), inaugura la investigación científica estudiando las partículas atmosféricas mediante un procedimiento que las retiene haciendo borbotear el aire en agua destilada. Pero fue Pasteur el que perfeccionó los procedimientos empleados por

este investigador y realizó los primeros estudios precisos de las bacterias del aire, cuando demostró la no existencia de la generación espontánea.

El método utilizado consistió en hacer pasar un volumen determinado de aire con ayuda de un aspirador por algodón-pólvora colocado en un tubo de vidrio, que posteriormente se disolvía en alcohol-éter. En el líquido se depositaban todas las partículas del aire, entre ellas esporas de mohos y de bacterias. En 1862 escribe: *«Hay constantemente en el aire un número variable de corpúsculos cuya forma y estructura anuncian que son organizados. Sus dimensiones se encuentran alrededor de 1:100 mm. Unos son esféricos, otros ovoides, muchos son translúcidos y parecen esporas de mohos»* (Pasteur, 1862). (De la Rosa, Mosso, & Ullán, 2002)

En aquella época, uno de los motivos que propiciaron el estudio de los microorganismos del aire fue descubrir la causa de algunas enfermedades. Así sucedió durante la epidemia de cólera que apareció en Europa en 1847 y 1848. Ehrenberg en Berlín, Swagne, Brittan y Budd en Inglaterra, Robin y Pouchet en Francia, realizaron diversas investigaciones para descubrir en el aire de los hospitales los «gérmenes» causantes de esta enfermedad. También en la siguiente epidemia de cólera, Thompson (1855) intentó descubrir el agente causante utilizando el método de Claubry, observando vibrios y mohos.

Otros investigadores como Selmi en Italia y Salisbury en EEUU (1866), estudiaron el aire de los pantanos con el fin de conocer la causa de la fiebre intermitente y la malaria. El método que usaron estos primeros investigadores fue muy simple: consistía en explorar el aire con un portaobjetos con un líquido viscoso como la glicerina. El aeroscopio sustituyó con ventaja a estos métodos. Inventado por Pouchet en 1860, consistía en un tubo grueso cilíndrico unido por uno de sus extremos a una tubuladura por el cual se aspiraba el aire, y por el otro extremo se colocaba una lámina de vidrio recubierta de una sustancia viscosa como glicerina, que podía observarse al microscopio. Cunningham lo reformó en 1872 y Miquel lo unió a una veleta y posteriormente a una bomba aspiradora para poder realizar análisis cuantitativos (1879).

Hesse (1884) diseñó un sistema para contar los microorganismos, consistente en un tubo grueso recubierto en su interior de gelatina. El aire penetraba mediante un tubo unido a un aspirador a través de un orificio realizado en la membrana de caucho que recubría un extremo del tubo. A partir de este aparato, Miquel diseñó un modelo más práctico consistente en un matraz cónico con una tubuladura lateral, por la que entraba el aire a través de un tubo capilar inmerso en un medio de gelatina. Pierre Miquel fue sin duda el investigador que más estudió los microorganismos del aire, en el observatorio de Montsouris en París, desde 1879 y durante más de 25 años, realizó numerosos ensayos creando y perfeccionando una gran variedad de métodos. Además del aeroscopio, empleó un procedimiento basado en el fraccionamiento de los cultivos para determinar el número de hongos y bacterias, consistente en dirigir el aire en tubos de bolas y posteriormente (1880), en un matraz de borboteo, conteniendo líquidos nutritivos estériles.

A partir de 1882 se generalizan los análisis microbiológicos del aire, estudiándose el número y tipo presentes en diversos ambientes. Miquel fue el que realizó los estudios más numerosos y variados. Analizó tanto el aire confinado de casas y hospitales como la atmósfera de diversas calles de París, de los parques, el cementerio de Mont Parnasse, e incluso las alcantarillas. No sólo determinó el número por m<sup>3</sup> presente en cada uno de estos ambientes, sino su naturaleza y propiedades patógenas, así como la influencia de los diversos factores (temperatura, lluvia, corrientes de aire, altitud, número de personas, etc.) y la posibilidad de transmisión por el aire de enfermedades contagiosas. (De la Rosa, Mosso, & Ullán, 2002)

Ya en los años treinta, aparecen los trabajos de Wells, que realizó en numerosos ambientes de New York como las calles, hospitales y escuelas y descubrió la existencia de los “núcleos goticulares”, demostrando que algunos microorganismos patógenos podían transmitirse a grandes distancias y sobrevivir en el ambiente durante semanas o meses. La década de los años cincuenta se caracterizó por la aparición de una ciencia multidisciplinar, la Aerobiología, en la que se estudian los microorganismos del aire desde todos sus aspectos. Varios autores estudian la supervivencia de los microorganismos en los aerosoles tales como: *Bacillus*, *Echerichia coli*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Micobacterium*, *Staphylococcus* etc; algunos hongos como: *Aspergillus* y *Pestalotia*.

Un avance importante para el control de los microorganismos en ambientes cerrados, fue la utilización de los filtros para el aire de fibra de vidrio o de alta eficacia (HEPA), ampliamente utilizados en hospitales e industria farmacéutica para conseguir salas o zonas asépticas. En la década de los setenta surge una mayor preocupación por el control del aire en los ambientes cerrados principalmente en los hospitales, industrias farmacéuticas y alimentarias. Así por ejemplo en 1969 la OMS dicta las primeras normas recomendadas para la fabricación y la inspección de la calidad de los medicamentos en los que se incluye el control microbiano del aire de los locales. Desde entonces el estudio microbiológico de estos ambientes ha ido en aumento, siendo actualmente práctica habitual e incluso obligatoria, el efectuar recuentos y controles periódicos del aire en las zonas estériles y limpias de hospitales, industrias de alimentos y farmacéuticas.

También suelen controlarse otros ambientes cerrados como fábricas de aparatos electrónicos, escuelas y edificios de oficinas. Este último caso, se debe a que, en los últimos años, se ha descrito una nueva enfermedad “El síndrome del edificio enfermo” que se produce en los ocupantes de determinados edificios. El origen de los síntomas, irritación de las membranas mucosas, dolor de cabeza, erupciones y dificultad respiratoria, no está aún muy claro, pero entre las posibles causas se citan factores ambientales, químicos y microorganismos.

Actualmente nos encontramos en un periodo de gran interés en la microbiología del aire, lo que ha supuesto un desarrollo de la actividad investigadora en este campo.(De la Rosa, Mosso, & Ullán, 2002)

## **MESOFILOS AEROBIOS**

En este grupo se incluyen todos los microorganismos, capaces de desarrollar en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una óptima entre 30°C y 40°C. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos, en condiciones establecidas, estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados durante su elaboración.

Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Ahora bien, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados.(RED NACIONAL DE LABORATORIOS OFICIALES DE ANALISIS DE ALIMENTOS, 2014)

## **HONGOS**

Los hongos son miembros del reino vegetal que no están diferenciados en raíces, tallos y hojas; carecen del pigmento fotosintético verde, la clorofila. Presenta múltiples formas, incluidos setas, mohos y levaduras.

Comúnmente se da el nombre de moho a ciertos hongos multicelulares filamentosos, dotados de un micelio verdadero, microscópicos, y cuyo crecimiento en los alimentos se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso. Los hongos son microorganismos aerobios estrictos, eucarióticos, característicamente miceliares, y heterótrofos con nutrición por absorción, desarrollan en un rango de pH de 2 a 9, temperaturas entre 10 a 35°C y pueden crecer en condiciones de actividad de agua relativamente bajas (<0.85), aunque las levaduras generalmente requieren una mayor actividad de agua.

(RED NACIONAL DE LABORATORIOS OFICIALES DE ANALISIS DE ALIMENTOS, 2014)

## **AGAR PLATE COUNT**

Medio de cultivo recomendado para el recuento de bacterias aeróbicas en aguas, aguas residuales, productos lácteos y otros alimentos. También es recomendado como medio general para determinar poblaciones microbianas.(Santambrosio, Ortega, & Garibaldi, 2009)

## **AGAR OGY**



Agar oxytetraciclina glucosa con extracto de levadura selectivo para el recuento de mohos y levaduras en muestras alimenticias.(Becton Dickinson )

## **MARCO LEGAL**

DECRETO NÚMERO 1575 DE 2007: establece el sistema para la protección y control de la calidad del agua, con el fin de monitorear, prevenir y controlar los riesgos para la salud humana causados por su consumo, exceptuando el agua envasada.

Aplica a todas las personas prestadoras que suministren o distribuyan agua para consumo humano, ya sea cruda o tratada, en todo el territorio nacional, independientemente del uso que de ella se haga para otras actividades económicas, a las direcciones territoriales de salud, autoridades ambientales y sanitarias y a los usuarios. (DECRETO 1575, 2007)

RESOLUCIÓN 2115: en esta se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. (RESOLUCIÓN 2115, 2007)

RESOLUCIÓN 4353: se autorizan laboratorios para el análisis físico-químico y microbiológico de agua para el consumo humano.

ISO 17025: Establece los requisitos generales para la competencia en la realización de ensayos y/o calibraciones, incluido el muestreo. Cubre los ensayos y las calibraciones que se realizan utilizando métodos normalizados, métodos no normalizados y métodos desarrollados por el propio laboratorio.

## **METODOLOGÍA**

### **TIPO DE ESTUDIO:**

Se desarrolló un estudio de tipo descriptivo basado en lo establecido por el STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, en cuanto al uso de la técnica de sedimentación en placa, utilizando agar plate count para mesófilos aerobios y agar BHI para la búsqueda de hongos, lo cual se hizo teniendo en cuenta los parámetros indicados para garantizar la eficiencia del proceso y se registró los resultados en el formato CONTROL MICROBIOLOGICO AMBIENTAL PAM para su posterior análisis.

### **POBLACIÓN**

El estudio se realizó en el laboratorio de aguas de la empresa Proactiva ubicado en Sierra chiquita de la ciudad de Montería en las áreas de análisis microbiológico.

### **MUESTRA**

Para realizar la valoración se analizaron los ambientes de las áreas de microbiología una vez a la semana, previa limpieza y desinfección y exposición con lámparas de luz U.V.

### **LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**

Para la limpieza y desinfección se utilizó detergente en polvo comercial y HTH cloro granulado (Cloruro de calcio) el cual se usa para la desinfección del agua de piscinas, es de disolución rápida y sirve para eliminar bacterias del agua y eliminar la turbidez. Para su uso en desinfección de mesones utilizamos pequeñas cantidades de más o menos 2 gramos para un volumen de un litro.

El procedimiento se realizó de la siguiente manera: en un recipiente plástico se agregaba una pequeña cantidad de detergente en polvo comercial y se agregaba agua del grifo para hacer una solución jabonosa, luego se procedía a limpiar los mesones área por área de la misma manera. Primero con una toalla limpia se agregaba la solución jabonosa hasta dejar limpia la zona, luego se retiraba con agua el exceso de jabón. Para finalizar con una toalla se realizaba la desinfección con la solución de HTH, impregnándola con la solución y luego pasarla por los mesones.

## EXPOSICIÓN CON LUZ U.V

Luego de la limpieza y desinfección diaria se encienden las lámparas U.V con las cuales se busca eliminar los microorganismos presentes en el ambiente. El procedimiento se realiza de la siguiente manera: finalizada la limpieza y desinfección de todas las áreas se cierran bien las puertas y se encienden las lámparas U.V de las respectivas áreas y se dejan actuar por un tiempo de 15 min.

## METODO DE SEDIMENTACIÓN EN PLACA

Iniciamos el proceso realizando la limpieza de las áreas de trabajo de microbiología, es cual se realiza con una solución desinfectante que está compuesta por cloruro de calcio y agua, se toma un poco de la solución y se limpian los mesones, luego se encienden las luces UV por un tiempo establecido de 15 min.

El método de sedimentación en placa consiste en la exposición de placas de agar al ambiente, en esta caso utilizamos agar plate count para la búsqueda de mesófilos aerobios y agar BHI para la búsqueda de hongos.

Las placas de plate count y BHI se exponen en cada una de las áreas de trabajo las cuales son: área de preparación de medios y área de siembra. Estas se dejan por un tiempo establecido de 15 minutos, en los cuales las partículas presentes en el ambiente sedimentan en las placas de agar que posteriormente son incubadas a una temperatura de  $35 \pm 2$  ° C de 18 a 24 horas, en el caso de las placas de BHI se incuban a temperatura ambiente por 7 días. Cumplido el tiempo se leen e interpretan los resultados.

## EVALUACIÓN DE DESINFECTANTE

Para la evaluación de desinfectantes utilizamos diferentes concentraciones del mismo de la siguiente manera:

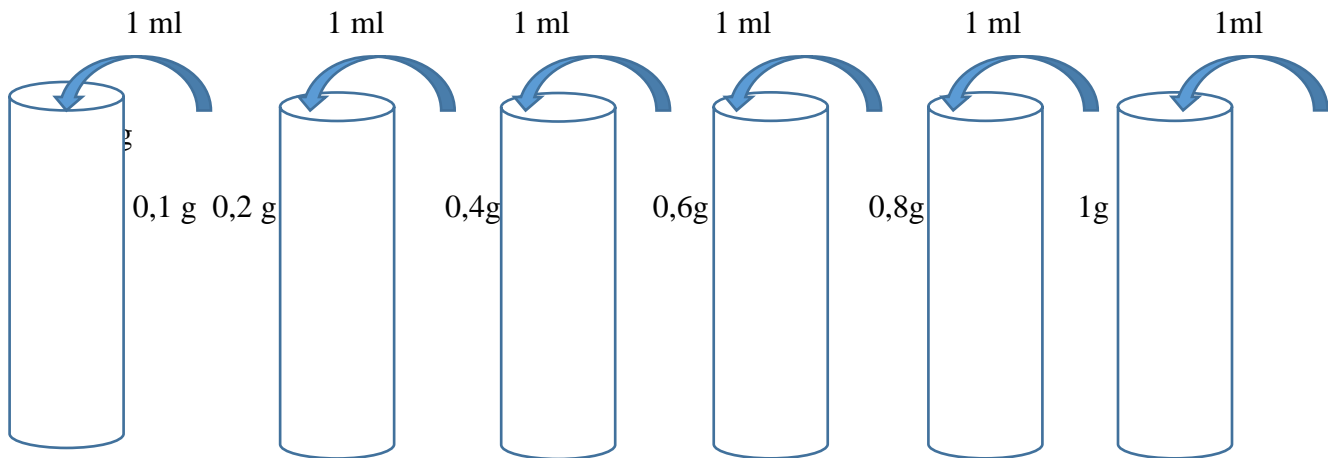
**Tabla 1 evaluación de desinfectantes**

Concentración desinfectante en gramos	Mililitros de agua
0,1 g	100 mL
0,2 g	100 mL
0,4 g	100 mL
0,6 g	100 mL
0,8 g	100 mL
1 g	100 mL

Fuente: elaboración propia

Se utilizaron frascos de 100 mL estériles, los cuales fueron marcados con la concentración del desinfectante en gramos para su correcta identificación. Previamente se inocularon cepas de *E. Coli* cepa ATCC 25922 en tubos con caldo BHI por 24 horas, de esta manera la cepa pudo crecer debidamente en el caldo. También se realizó un control positivo y negativo de los tubos con caldo BHI para garantizar la efectividad del proceso.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación y tras evidenciar crecimiento (turbidez) en los tubos se procede a marcarlos, cada uno con una concentración de desinfectante correspondiente, posteriormente y con todas las normas de bioseguridad y medidas necesarias para garantizar la viabilidad de nuestro proceso, proseguimos con la dispensación de las concentraciones de los desinfectantes ya elaborados en los tubos marcados con las concentraciones correspondientes de esta manera:



**Figura 1.**Dispensación de desinfectante en tubos de caldo BHI con *E. Coli* cepa ATCC 25922

Por último y luego de realizadas todas las dispensaciones incubamos los tubos a  $35 \pm 2^{\circ} \text{C}$  de 18 a 24 horas. Se leen y se interpretan los resultados.

Por último se realizó un análisis estadístico de los datos obtenidos en los resultados utilizando el programa Excel.

## RESULTADOS

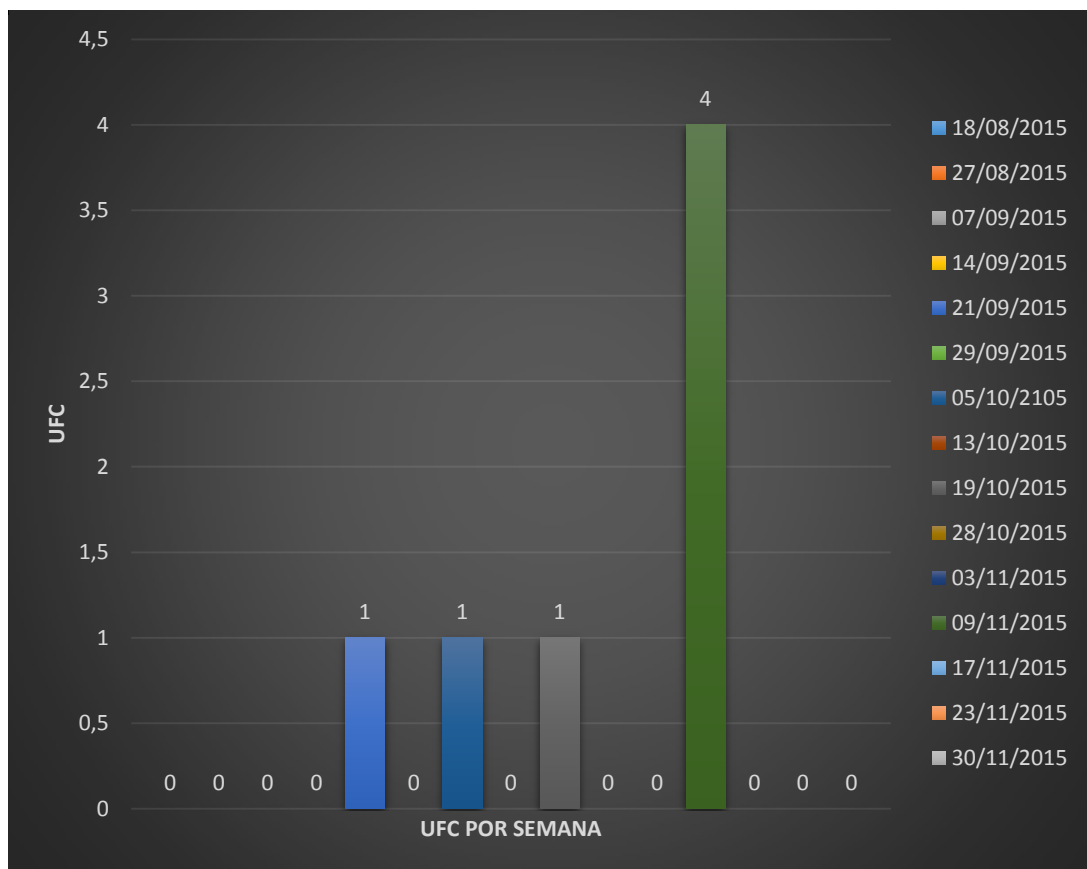
### TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN EN PLACA PARA LA DETECCIÓN DE MESÓFILOS AEROBIOS Y HONGOS

Los resultados encontrados fueron los siguientes:

**Tabla 2 resultados del control microbiológico de mesófilos aerobios por semana**

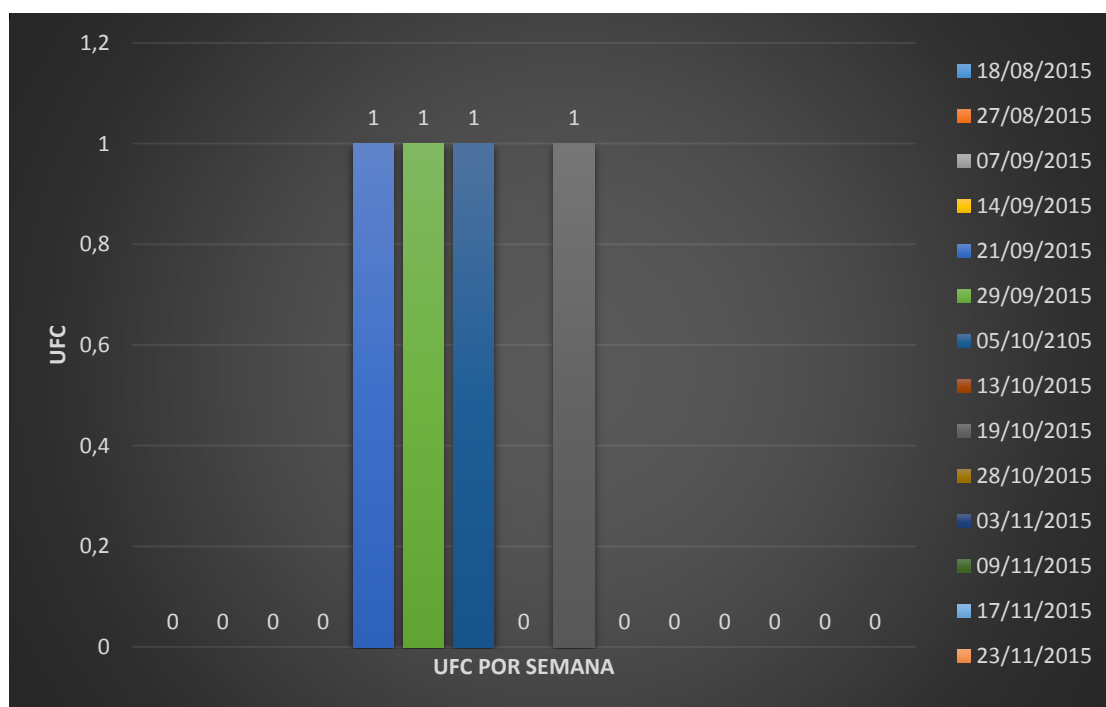
FECHA	ÁREA DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO	ÁREA DE SIEMBA
18- 08- 2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
27-08-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
07-09-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
14-09-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
21-09-2015	Mesófilos: 1 UFC	Mesófilos: 1 UFC
29-09-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 1 UFC
05-10 – 2015	Mesófilos: 1 UFC	Mesófilos: 1 UFC
13-10-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
19-10-2015	Mesófilos: 1 UFC	Mesófilos: 1 UFC
28-10-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
03-11-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
09-11-2015	Mesófilos: 4 UFC	Mesófilos: 0 UFC
17-11-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
23-11-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
30-11-2015	Mesófilos: 0 UFC	Mesófilos: 0 UFC
TOTAL	Mesófilos: 7 Promedio: 0,46	Mesófilos: 4 Promedio: 0,26

**GRÁFICA 1 RECuentos de MESOFILOS AEROBIOS EN AREA DE PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO, RESPECTO A SEMANAS EVALUADAS**



Fuente: Formato control microbiológico PAM

**GRÁFICA 2 RECuentos de MESOFILOS AEROBIOS EN AREA DE SIEMBRA, RESPECTO A SEMANAS EVALUADAS**



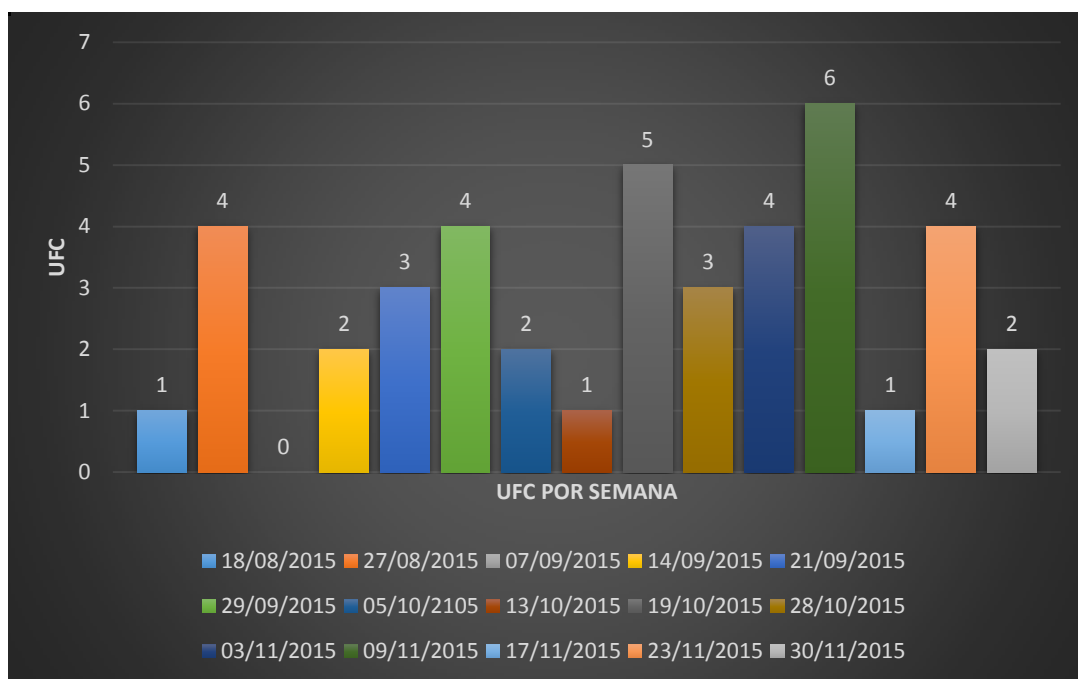
Fuente: Formato de control microbiológico PAM

**Tabla 3 resultados del control microbiológico de hongos**

FECHA	ÁREA DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO	AREA DE SIEMBRA
18- 08- 2015	Hongos: 1 UFC	Hongos: 4 UFC
27-08-2015	Hongos: 4 UFC	Hongos: 2 UFC
07-09-2015	Hongos: 0 UFC	Hongos: 0 UFC
14-09-2015	Hongos: 2 UFC	Hongos: 0 UFC
21-09-2015	Hongos: 3 UFC	Hongos: 1 UFC
29-09-2015	Hongos: 4 UFC	Hongos: 6 UFC

<b>05-10 – 2015</b>	Hongos: 2 UFC	Hongos: 2 UFC
<b>13-10-2015</b>	Hongos: 1 UFC	Hongos: 0 UFC
<b>19-10-2015</b>	Hongos: 5 UFC	Hongos: 2 UFC
<b>28-10-2015</b>	Hongos: 3 UFC	Hongos: 4 UFC
<b>03-11-2015</b>	Hongos: 4 UFC	Hongos: 4 UFC
<b>09-11-2015</b>	Hongos: 6 UFC	Hongos: 1 UFC
<b>17-11-2015</b>	Hongos: 1 UFC	Hongos: 2 UFC
<b>23-11-2015</b>	Hongos: 4 UFC	Hongos: 3 UFC
<b>30-11-2015</b>	Hongos: 2 UFC	Hongos: 4 UFC
<b>TOTAL</b>	Hongos: 42 Promedio: 2,8	Hongos: 35 Promedio: 2,3

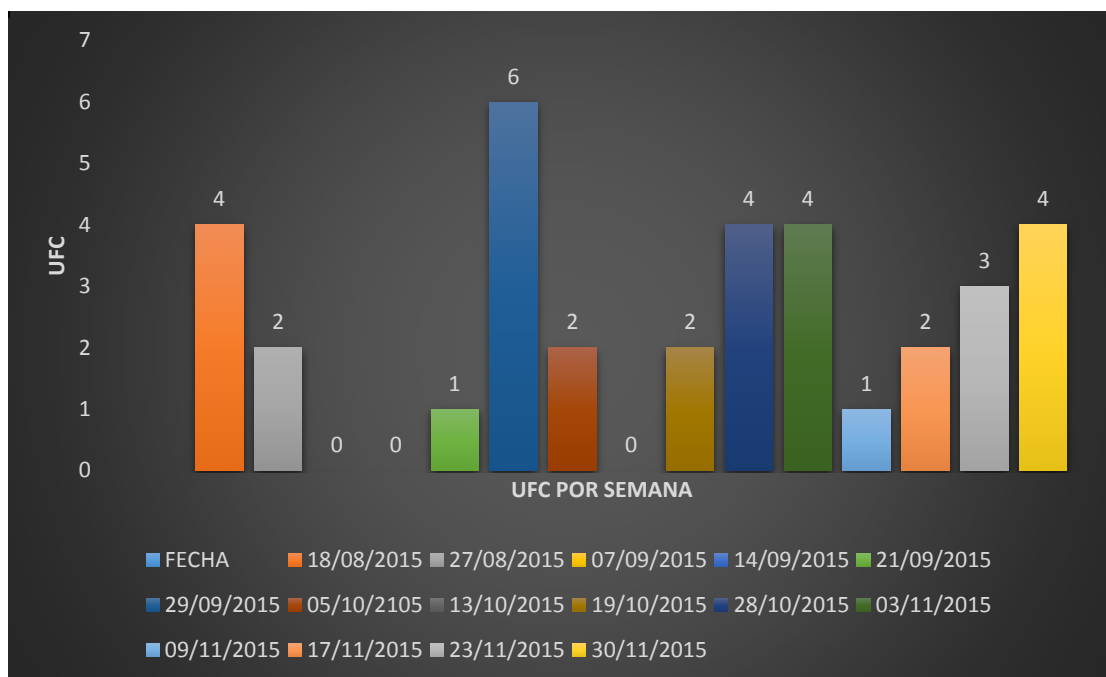
**GRÁFICA 3 RECuentos de Hongos en Area de Preparacion de Medios de Cultivo, respecto a Semanas Evaluadas**



Fuente: elaboración propia.



### GRÁFICA 3 RECUENTOS DE HONGOS EN AREA DE SIEMBRA, RESPECTO A SEMANAS EVALUADAS



Fuente: elaboración propia.

### EVALUACIÓN DE DESINFECTANTE (HTH)

Para la evaluación de desinfectantes encontramos los siguientes resultados:

**Tabla 4 resultados evaluación del desinfectante**

TUBO BHI CON INOCULO + CONCENTRACIÓN DE DESINFECTANTE	RESULTADOS
Tubo 0,1 g	crecimiento
Tubo 0,2 g	crecimiento
Tubo 0,4 g	Sin crecimiento
Tubo 0,6 g	Sin crecimiento
Tubo 0,8 g	Sin crecimiento
Tubo 1 g	Sin crecimiento

Fuente: elaboración propia

En los resultados encontramos que para el área de preparación de medios de cultivo el recuento de mesófilos es bajo, sólo encontramos recuentos en 4 fechas no consecutivas, donde lo máximo hallado fue 4 UFC y para las otras fechas fue de 1 UFC, lo que nos da un promedio de 0,46 UFC en 15 semanas.

Teniendo en cuenta los resultados encontrados en el área de siembra vemos que sólo se hallaron recuentos en 4 fechas de los cuales ninguno fue superior a 1 UFC lo que nos da un promedio de 0,26 UFC en 15 semanas.

El recuento de hongos para en ambas áreas también fue bajo, a pesar de estar estos ampliamente distribuidos en el ambiente el recuento más alto presentado fue de 6 UFC. En el área de preparación de medios de cultivo fue un poco mayor la prevalencia de hongos encontrados por semana donde se obtuvo un promedio de 2,8 UFC en 15 semanas. En el área de siembra se encontró al igual que en el área de medios de cultivo el recuento más alto fu de 6 UFC pero la prevalencia por semana fue un poco más baja obteniendo así un promedio de 2,3 UFC en 15 semanas.

En general todos los recuentos encontrados fueron bajos tanto para hongos como para mesófilos aerobios en ambas áreas. Aunque aún no existe una norma técnica colombiana que establezca límites de microorganismos en el ambiente el STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER establece que para mesófilos lo máximo permitido son 15 UFC, en cuanto a los hongos no se tiene establecido un límite, pero en los resultados no se encontraron recuentos superiores a 6 UFC por lo que no son datos de alarma pero se pueden mejorar.

En cuanto a la evaluación del desinfectante encontramos que a partir de la tercera dilución (0,4 g) en 100 mL de agua es efectivo, eliminando toda forma bacteriana.

## DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta los resultados se encontró que aunque en pequeñas cantidades los hongos fueron predominantes en los ambientes de trabajo a diferencia de las bacterias que se encontraron en cantidades menores. En el área de preparación de medios de cultivo se encontró un promedio de 0,46 que corresponde a mesófilos aerobios mientras que un promedio 2,8 corresponde a los hongos presentes en el área. Así mismo en el área de siembra el 2,3 fue el promedio de los microorganismos encontrados fueron hongos y en un 0,26 fueron mesófilos aerobios. Los recuentos bajos obtenidos se deben a la buena calidad de las áreas de trabajo, además de los buenos procesos de limpieza y desinfección, sumado a la exposición con las lámparas U.V que ayudan a la eliminación de microorganismos indeseados, en este caso mesófilos aerobios y hongos en general. Esto se puede atribuir a la localización y el uso de las mismas.

A menudo, tanto las esporas como los microorganismos vegetativos entran en la atmósfera como bioaerosoles, que pueden formarse por muchas causas: lluvia, movimiento del agua en los ríos y mar, aspersores de riego, aire acondicionado o secreciones respiratorias del hombre y de los animales. Ésta última es muy importante en la dispersión de bacterias patógenas y virus animales. Los microorganismos también pueden encontrarse en el aire sobre partículas de polvo o en el suelo. (De la Rosa, Mosso, & Ullán, 2002).

El área de preparación de medios de cultivo se encuentra ubicada cerca a la puerta de salida y entrada del personal, por lo cual es más susceptible a la contaminación externa, además de esto es el área de mayor uso, puesto que a diario se están preparando medios de cultivo para la determinación de coliformes totales y fecales, se utilizan papel kraft y balanza de triple brazo, razón por la cual para el procedimiento de pesado se apagan los aires acondicionado lo que ocasiona cambios a la temperatura y seguidamente a la humedad relativa del área, lo que propicia el crecimiento de microorganismos. El área de siembra al contrario del área de preparación de medios de cultivo se utiliza sólo una vez al día y su entrada está más alejada de la entrada del personal por lo cual la contaminación externa se da en menor proporción.

Los aires acondicionados son necesarios en nuestro clima para tener las temperaturas requeridas en las áreas de trabajo, pero estos al mismo tiempo pueden ser contaminadores de ambientes, debido a que microorganismos como los hongos pueden estar en ambientes húmedos y secos y así mismo también colonizar superficies. Por esto, una de las razones por las cuales la cantidad de hongos encontrados es superior a diferencia de las bacterias, las cuales necesitan mayor humedad y no cuentan con un sustrato para su supervivencia.

Para el caso de las áreas de trabajo del laboratorio de aguas los aires acondicionados cuentan con filtros HEPA que evitan la proliferación de los microorganismos, lo que explica porque los recuentos de estos fueron bajos para ambas áreas

En este informe no se realizó identificación de género y especie, pero de acuerdo a la literatura encontramos que las esporas del género *Penicillium* son un componente habitual de la aeromicobiota de ambientes internos y externos, y se presentan tanto en el aire como en el suelo. Otros géneros como *Fusarium*, *Stachybotrys* y *Trichoderma*, son conocidos como indicadores de problemas de humedad en lugares cerrados (y como *Acremonium*, *Chaetomium*, *Mucor* y *Rhizopus*), los cuales han sido aislados de ambientes cerrados y se han comunicado como responsables del biodeterioro de distintos materiales orgánicos. (Tolosa Moreno, Lizarazo Forero, & Blanco Valbuena, 2012)

Se encontró un total de 7 UFC en 15 semanas en el área designada para la preparación de medios de cultivo, obteniendo un promedio de 0.46 por semana para mesófilos aerobios. En cuanto al área de siembra se encontró en total 4 UFC, dándonos un promedio de 0,26 para mesófilos aerobios donde el límite según lo establecido en el STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER es hasta 15 UFC. Esto puede ser el resultado de la falta de condiciones necesarias para su desarrollo debido a las bajas temperaturas (entre 16 y 25° C), la humedad relativa entre un 60% y 70% y la falta de un sustrato los cuales son indispensables para el desarrollo de las bacterias.

En cuanto a los hongos en ambas áreas se obtuvieron recuentos no superiores a 6 UFC aunque en el área de preparación de medios de cultivo el recuento fue un poco mayor obteniendo un promedio de 2,8 mientras que en el área de siembra el promedio obtenido fue de 2,3. Los hongos a diferencia de las bacterias pueden crecer en condiciones de humedad relativa bajas, de igual manera necesitan de agua. Pueden crecer a temperaturas de 25 a 30°C e incluso existen especies capaces de crecer a temperatura de 0 a 55°C.

Aunque no hay una normatividad colombiana establecida para el control microbiológico de los ambientes, el laboratorio de aguas de PROACTIVA AGUAS DE MONTERIA S.A E.S.P cumple con lo establecido en el STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. Con esto se demuestra que los ambientes de trabajo son óptimos para la realización de los procesos microbiológicos, para los cuales un ambiente de excelente calidad es indispensable para garantizar la validez de los mismos. También podemos decir que el uso de desinfectantes y la exposición a luz U.V son ideales para la eliminación de los microorganismos y los resultados demuestran su efectividad.

## **CONCLUSIÓN**

Se pudo comprobar que una adecuada limpieza y desinfección son indispensables para garantizar la inocuidad de las áreas de trabajo, además el uso de otros métodos de desinfección como las lámparas U.V en conjunto con desinfectantes bactericidas son ideales para garantizar la eliminación de microorganismos no deseados.

Se verificaron los procesos de limpieza y desinfección en las áreas de análisis microbiológico de agua, los cuales de acuerdo a lo encontrado cumplen las expectativas, garantizando las condiciones necesarias para la realización de los procesos bajo condiciones óptimas.

De igual forma se verificó que el laboratorio de aguas de PROACTIVA AGUAS DE MONTERIA S.A E.S.P cumple con lo establecido en STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, en cuanto al rango de crecimiento admisible para los parámetros de mesofilos aerobios (menor 15 UFC), y Hongos.

## **RECOMENDACIONES**

Resulta importante el uso de desinfectantes menos corrosivos, de acuerdo al área de trabajo, como el peróxido de hidrogeno que tiene baja toxicidad en los humanos y para el medio ambiente, tiene un amplio espectro germicida y esporicida, de igual forma es adecuado incorporar el uso de compuestos de amonio cuaternario, ya que son inodoros, no causan manchas, no son corrosivos y son relativamente no tóxicos, son bactericidas y fungicidas y elimina algunos virus.

Se considera necesario cambiar de recipiente donde se diluye el desinfectante cada vez que sea necesario para evitar formación de partículas, precipitados y sustancias que lo contaminen. También se hace necesario utilizar toalla de tela desechable en cada proceso de limpieza y desinfección para garantizar la efectividad del proceso.

Se debe tener en cuenta que las cifras de la humedad relativa y temperatura no varíen más de lo normal para evitar el crecimiento de bacterias y que se incremente el crecimiento de los hongos.

## ANEXOS



Imagen 1. Frascos con concentraciones de desinfectantes

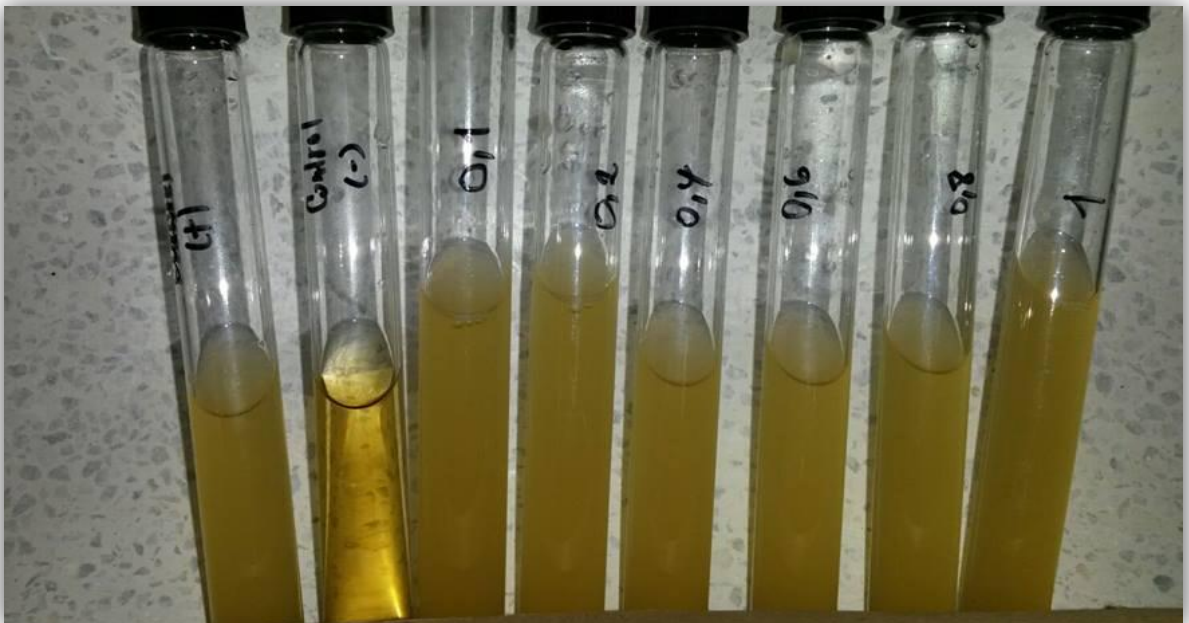


Imagen 2. Tubos con caldo BHI previamente inoculados con cepas ATCC 25922 *Escherichia coli*



Imagen 3. Inoculación de desinfectantes en tubos previamente inoculados con ATCC 25922 *Escherichia coli*



Imagen 4. Tubos con inóculo ATCC 25922 *Escherichia coli*+ concentración del desinfectante luego del tiempo de incubación.



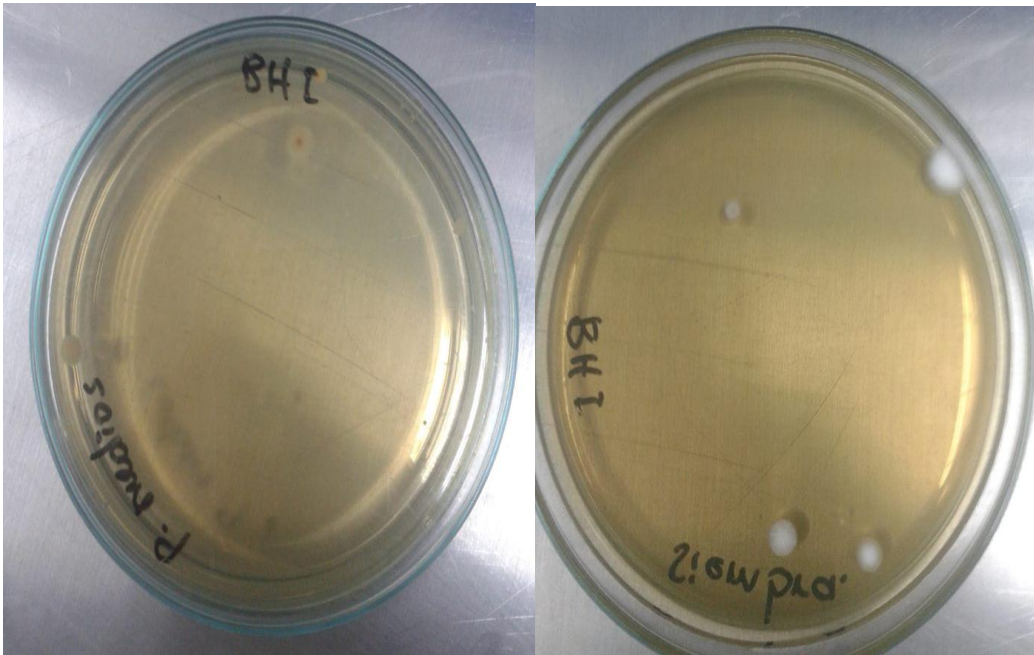


Imagen 5. Cajas de Petri con crecimiento de hongos área de p. medios de cultivo y siembra, respectivamente.



Imagen 4. Incubadoras marca Memmert laboratorio de aguas PROACTIVA AGUAS DE MONTERIA S.A E.S.P

## BIBLIOGRAFÍA

Becton Dickinson . (s.f.). INSTRUCCIONES DE USO – MEDIOS EN PLACA LISTOS PARA USAR.

De la Rosa, M. C., Mosso, M. A., & Ullán, C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión. *Observatorio Medioambiental*, 384.

DECRETO 1575. (2007).

Pérez, H., & Sanchez, V. L. (2010). Propuesta de diseño de monitoreo ambiental microbiológico para diagnóstico de niveles de contaminación en áreas de procesamiento aséptico. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 8.

RED NACIONAL DE LABORATORIOS OFICIALES DE ANALISIS DE ALIMENTOS. (2014). ANALISIS MICROBIOLOGICO DE LOS ALIMENTOS.

RESOLUCIÓN 2115. (2007).

RESOLUCIÓN 4353. (2013).

Santambrosio, E., Ortega, M., & Garibaldi, P. A. (2009). Preparación medios de cultivo.

Tolosa Moreno, D., Lizarazo Forero, L. M., & Blanco Valbuena, J. O. (2012). CONCENTRACIÓN Y COMPOSICIÓN MICROBIANA EN EL AMBIENTE DE LA BIBLIOTECA CENTRAL JORGE PALACIOS PRECIADO DE LA UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA Y TECNOLÓGICA DE COLOMBIA, TUNJA, COLOMBIA. 248.

[www.sharlab.com](http://www.sharlab.com). (s.f.). control microbiológico ambiental y de superficies.